

## Aktivitas Antagonisme Khamir Asal Daun Jati (*Tectona grandis*) terhadap *Aspergillus* sp. Asal Pakan Ayam

### *Antagonism Activity of Yeast from Teak Leaves (Tectona grandis) Against Aspergillus sp. in Chicken Feed*

Widowati R<sup>1</sup>, Sukmawati D<sup>2</sup>, Marham HD<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Program Studi Magister Biologi, Sekolah Pascasarjana, Universitas Nasional, Jl. Harsono RM No 1. Jakarta Selatan 12550.

<sup>2</sup>Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Jakarta, Jl. Pemuda Rawamangun, Jakarta Timur 13220.

Widowati R, Marham HD, Sukmawati D. 2019 – Aktivitas Antagonisme Khamir Asal Daun Jati (*Tectona grandis*) Terhadap *Aspergillus* sp. Asal Pakan Ternak Ayam. Jurnal Mikologi Indonesia 3 (1): 33-42.

#### Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi isolat-isolat khamir *phylloplane* yang berasal dari permukaan daun jati (*Tectona grandis*) sebagai agen pengendali hayati kapang pathogen *Aspergillus* sp. yang diisolasi dari pakan ternak ayam di daerah Bogor. Sebanyak 14 isolat khamir dan kapang *Aspergillus* sp. yang diuji merupakan koleksi UNJ Culture Collection. Metode *co-culture* dengan medium *Potato Dextrose Broth* (PDB) digunakan untuk uji antagonis khamir terhadap kapang. Pengamatan pertumbuhan khamir dilakukan dengan melihat adanya endapan, warna endapan, terbentuknya pelikel, dan perubahan pH medium. Adapun kapang diamati dengan melihat adanya hifa atau miselium, sporulasi, warna koloni dan pH medium. Hasil menunjukkan terdapat Sembilan isolat khamir yang paling berpotensi dalam menekan pertumbuhan *Aspergillus* sp., yaitu isolat-isolat khamir dengan kode T1D1 WU 2.2a; T3D2 DU 1.7; T4D2 WU2J2; T4P2-DU 2.1; T4D2 DU 2.1; T5D2 WU 1.5; T5D2 DU 1.1; CL1 PW1; dan T5D1 DU 2.2.

**Kata kunci** –biokontrol–kapang pathogen –khamir –*phyloplane*

#### Abstract

The objective of this study was to determine the potential of *phylloplane* yeast from the surface of teak leaves (*Tectona grandis*) as a biological control agent against *Aspergillus* sp. isolated from chicken feed in the Bogor area. All yeast (14 isolates) and *Aspergillus* sp. Isolates used in this study were obtained from UNJ Culture Collection. A *co-culture* method in *Potato Dextrose Broth* (PDB) medium was used to test the yeasts antagonistic activity against *Aspergillus* sp. The yeast growth was determined by the presence of sediment, sediment color formation of pellets, and pH medium. This study found that nine yeast isolates (T1D1 WU code 2.2a; T3D2 DU 1.7; T4D2 WU2J2; T4P2-DU 2.1; T4D2 DU 2.1; T5D2 WU 1.5; T5D2 DU 1.1; CL1 PW1; and T5D1 DU 2.2) exhibited antagonistic activity against *Aspergillus* sp. indicated by suppressing the growth of mycelium and sporulation of the *Aspergillus* sp.

**Keywords** –biocontrol –pathogenic fungus –yeast – *phylloplane*

## Pendahuluan

Pakan merupakan salah satu komponen penting dalam perternakan unggas. Pakan ternak unggas terdiri dari berbagai komponen yang memiliki kandungan nutrisi sesuai dengan kebutuhan pertumbuhan dan perkembangan ternak. Gillespie & Flanders (2009) menyatakan bahwa unggas yang sehat membutuhkan karbohidrat, lemak, dan protein dalam jumlah yang cukup, bersama dengan vitamin dan mineral makanan yang diperlukan.

Permasalahan yang ditemukan dalam pakan ternak adalah adanya pertumbuhan dari kapang pengontaminasi. Kehadiran kapang kontaminan memiliki efek negatif terhadap kualitas pakan, organoleptik, dan nilai nutrisi (Cegielska-Radziejewska *et al.* 2013). Shareef (2010) melaporkan beberapa jenis kapang pengontaminasi pakan ternak unggas yang meliputi dua *genera* Zygomycetes (*Mucor*, *Rhizopus*), satu *genus* Ascomycetes (*Eurotium*), dan mayoritas dari Deuteromycetes yang meliputi 11 *genera* (*Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Scopulariopsis*, *Trichothecium*, *Ulocladium*, dan *Aerobasidium*). Di antara taksa tersebut, *Aspergillus* merupakan kapang yang paling sering dijumpai pada pakan ternak unggas.

Adanya kapang pengontaminasi di dalam pakan ternak dapat mengakibatkan perubahan fisik dan kimia dari pakan tersebut, sehingga bahan pangan unggas tidak layak dikonsumsi oleh ternak. Selain mampu mengurangi nilai gizi bahan pakan, kapang juga menghasilkan beberapa jenis mikotoksin yang memiliki efek buruk pada kesehatan dan produktivitas hewan ternak. Bahkan, mikotoksin di dalam pakan dapat terbawa ke dalam daging dan telur ternak (Greco *et al.* 2015). Salah satu cara yang telah digunakan untuk mengatasi adanya kontaminasi kapang pada pakan ternak unggas adalah dengan menggunakan antifungi sintetik penghambat pertumbuhan kapang seperti thiabendazole (TBZ) dan imazalil (IMZ). Akan tetapi, hal ini memunculkan dampak negatif dengan munculnya resistensi mikroba terhadap antifungi sintetik, termasuk terjadinya peningkatan resistensi antimikroba pada manusia yang berasal dari penggunaan zat-zat antimikroba pada pakan ternak (Angulo *et al.* 2004, Sánchez-Torres & Tuset 2011, WHO 2017). Selain itu, penggunaannya menjadi lebih terbatas karena toksisitas residu yang tinggi, efek karsinogenik, degradasi dan polusi lingkungan yang ditimbulkan (Palou *et al.* 2008). Oleh karena itu, negara-negara di Eropa telah membatasi penggunaan agen antibiotik non terapeutik, termasuk pada pakan ternak (Marshall & Levy 2011).

Untuk mengatasi hal tersebut, pencarian agen-agen biokontrol yang mampu menghambat pertumbuhan kapang pengontaminasi pakan sangat penting untuk dilakukan. Salah satu kelompok organisme yang memiliki potensi untuk menjadi agen biokontrol tersebut adalah kelompok khamir. Khamir merupakan kelompok besar mikroorganisme yang memiliki kemampuan tumbuh dan bertahan hidup dalam kondisi ekstrim, sehingga mampu bertahan dan tumbuh di berbagai tipe ekosistem lingkungan dan berasosiasi dengan makhluk hidup lainnya (Muccilli & Restuccia 2015). Di dalam penelitian ini dilakukan pengujian aktivitas antagonisme dari beberapa khamir *phylloplane* yang diisolasi dari daun jati (*T. grandis*) terhadap kapang *Aspergillus* pengontaminasi pakan ternak unggas.

## Metoda Penelitian

### Mikroorganisme

Sebanyak 14 isolat khamir digunakan di dalam penelitian ini, yaitu: T1D1 WU 2.2a, T3D2 DU 1.7, T4D2 WU2J2, T4D2 DU 2.2, T4P2-DU 2.1, T4D2 DU 2.1, T3D2 DU 2.2, T5D2 WU 1.5, T5D2 WU 2.4, T5D2 DU 1.1, T5D1 DU 2.2, CL1 PW2, CL2 PW1, CL1 PW1. Kapang *Aspergillus* sp. yang digunakan berasal dari pakan ternak ayam di daerah Bogor. Semua isolat khamir dan kapang yang digunakan merupakan koleksi UNJ *Culture Collection*.

### **Medium dan Pembuatan Medium**

Medium *Potato Dextrose Agar* (PDA) digunakan sebagai medium permurnian, *stock* dan *working culture* kapang dan khamir. *Potato Dextrose Broth* (PDB) (Atlas 2010) digunakan sebagai medium fermentasi *co-culture*. Medium PDA dan PDB dibuat berdasarkan prosedur yang tertera pada kemasan medium.

### **Pemurnian Khamir dan Kapang**

Pemurnian khamir dilakukan berdasarkan Benson (2001) dengan menggunakan *quadrant streak method*. Khamir yang telah diisolasi dari daun jati, terlebih dahulu dimurnikan pada medium PDA pada cawan petri. Khamir dari *original culture* diinokulasikan menggunakan jarum *ose* dan tusuk gigi, dan digoreskan di empat kuadran pada permukaan medium. Goresan pertama, menggunakan jarum *ose* yang sudah disterilkan menggunakan pembakar spiritus, dan goresan selanjutnya menggunakan tusuk gigi steril. Medium tersebut kemudian diinkubasi selama 2 hari pada kondisi suhu 28°C dalam keadaan posisi cawan Petri terbalik. Pengulangan pemurnian dilakukan 2- 3 kali sampai diperoleh koloni tunggal yang terbebas dari kontaminasi. Khamir dan kapang yang telah murni diinokulasikan ke medium *Potato Dextrose Agar* (PDA) miring di dalam tabung reaksi sebagai *stock culture* dan *working culture*. *Stock culture* di simpan pada suhu 4°C.

### **Uji Antagonisme**

Pengujian antagonisme dilakukan menggunakan metode *co-culture* berdasarkan Oetari *et al*. (2007). Pengujian dilakukan dengan mempersiapkan biakan khamir yang berumur 48 jam dan biakan *Aspergillus* sp. berumur 4 hari pada suhu 28°C. Sebanyak 15 gores biakan khamir dan 15 gores biakan *Aspergillus* sp. Dipersiapkan untuk pengujian aktivitas antagonisme.

Biakan khamir disuspensikan di dalam 5 mL PDB steril, kemudian dihomogenkan menggunakan vortex selama satu menit. Sebanyak 1 mL suspensi sel khamir ditambahkan ke dalam 18 mL PDB. Kemudian biakan ditumbuhkan dengan pengocokan secara resiprokral 100 rpm pada suhu ruangan selama 8 jam. Biakan kapang disuspensikan dalam 5 mL PDB steril, kemudian dihomogenkan menggunakan vorteks. Sebanyak 1 mL suspensi spora kapang ditambahkan ke dalam 18 mL PDB yang telah ditumbuhi oleh sel-sel khamir berumur 8 jam. Medium diinkubasi pada suhu 28°C selama empat hari dalam keadaan fermentasi diam.

Pengamatan secara makroskopik terhadap pertumbuhan khamir dan kapang dilakukan setiap hari. Pertumbuhan khamir diamati dengan melihat pembentukan pelikel, ada tidaknya endapan khamir, warna endapan, perubahan pH, dan perubahan berat medium. Pertumbuhan kapang diamati dengan melihat pembentukan miselium, sporulasi, warna koloni, dan perubahan pH medium.

## **Hasil**

### **Kondisi Medium**

Persentase penurunan berat medium hari pertama hingga hari ke empat pada kontrol khamir berkisar antara 0,9% – 2,4% (Tabel 1.), penurunan berat medium pada kontrol kapang selama empat hari adalah 2,5% (Tabel. 2) dan penurunan berat medium pada perlakuan khamir terhadap kapang berkisar antara 1,6% – 3,75% (Tabel 3). Sedangkan kondisi pH medium selama pengujian menunjukkan adanya penurunan, yaitu dari pH 5,0 menjadi antara 4,0 -5,0.

**Tabel 1** Hasil persentase penurunan berat medium pada kontrol khamir dalam medium PDB

No	Kode Khamir	Persentase penurunan berat medium (%)				Jumlah
		Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3	Hari ke-4	
1	T1D1 WU 2.2a	0,3	0,3	0,3	0,4	1,3
2	T3D2 DU 1.7	0,6	0,2	0,2	0,4	1,4
3	T4D2 WU2J2	0,3	0,3	0,4	0,3	1,3
4	T4D2 DU 2.2	0,2	0,25	0,25	0,3	1,0
5	T4P2-DU 2.1	0,2	0,3	0,2	0,2	0,9
6	T4D2 DU 2.1	0,2	0,2	0,3	0,2	0,9
7	T3D2 DU 2.2	0,4	0,25	0,2	0,25	1,1
8	T5D2 WU 1.5	0,2	0,2	0,36	0,3	1,06
9	T5D2 WU 2.4	0,4	0,1	0,2	0,3	1,0
10	T5D2 DU 1.1	0,3	0,4	0,2	0,2	1,1
11	CL1 PW2	0,3	0,8	0,7	0,6	2,4
12	CL1 PW1	0,2	0,7	0,5	0,78	2,18
13	T5D1 DU 2.2	0,2	0,6	0,5	0,5	1,8
14	CL2 PW1	0,3	0,7	0,7	0,5	2,2

**Tabel 2** Hasil persentase penurunan berat medium pada kontrol kapang dalam medium PDB

No	Kapang	Persentase penurunan berat medium (%)				Jumlah
		Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3	Hari ke-4	
1	<i>Aspergillus</i> sp.	0,2	0,9	0,9	0,5	2,5

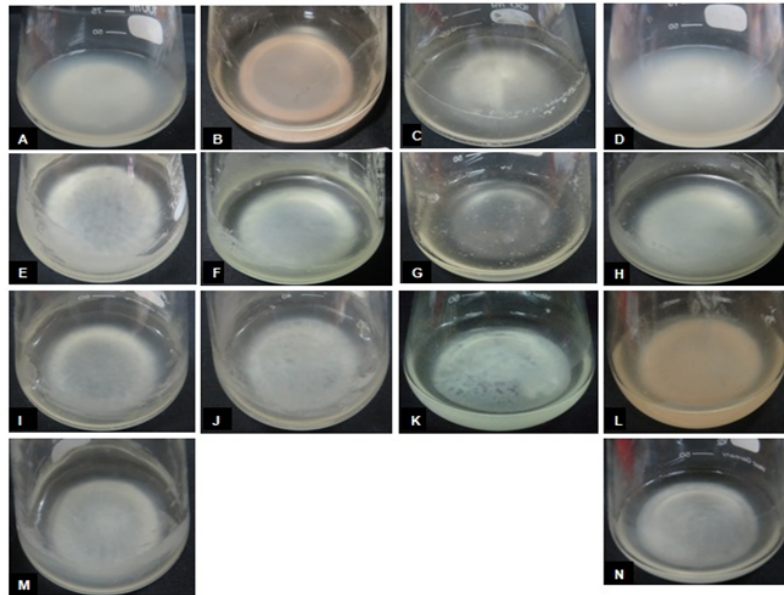
**Tabel 3** Hasil persentase penurunan berat medium pada perlakuan pengujian antagonisme dalam medium PDB

No	Perlakuan terhadap <i>Aspergillus</i> sp.	Persentase penurunan berat medium (%)				Jumlah
		Hari ke-1	Hari ke-2	Hari ke-3	Hari ke-4	
1	T1D1 WU 2.2a	0,4	0,5	0,7	0,4	2,0
2	T3D2 DU 1.7	0,5	0,6	0,9	0,4	2,4
3	T4D2 WU2J2	0,4	0,6	0,9	1,6	3,5
4	T4D2 DU 2.2	0,5	0,6	0,9	0,5	2,5
5	T4P2-DU 2.1	0,4	0,4	0,6	0,3	1,7
6	T4D2 DU 2.1	1,9	1,05	0,7	0,1	3,75
7	T3D2 DU 2.2	0,4	0,5	0,6	0,3	1,8
8	T5D2 WU 1.5	0,4	0,5	0,7	0,3	1,9
9	T5D2 WU 2.4	0,4	0,5	0,9	0,4	2,2
10	T5D2 DU 1.1	0,4	0,5	0,7	0,3	1,9
11	CL1 PW2	0,3	0,8	0,7	0,3	2,1
12	CL1 PW1	0,2	0,6	0,5	0,3	1,6
13	T5D1 DU 2.2	0,3	0,8	0,6	0,5	2,2
14	CL2 PW1	0,2	0,8	0,7	0,4	2,1

**Uji Antagonisme**

Hasil pengamatan koloni khamir pada kontrol dalam medium PDB selama empat hari menunjukkan adanya pertumbuhan sel khamir (Gambar 1). Hal tersebut ditunjukkan melalui kekeruhan yang terjadi pada media dan terbentuknya endapan pada dasar media yang merupakan lapisan biomassa khamir. Selain pembentukan endapan dan kekeruhan medium,

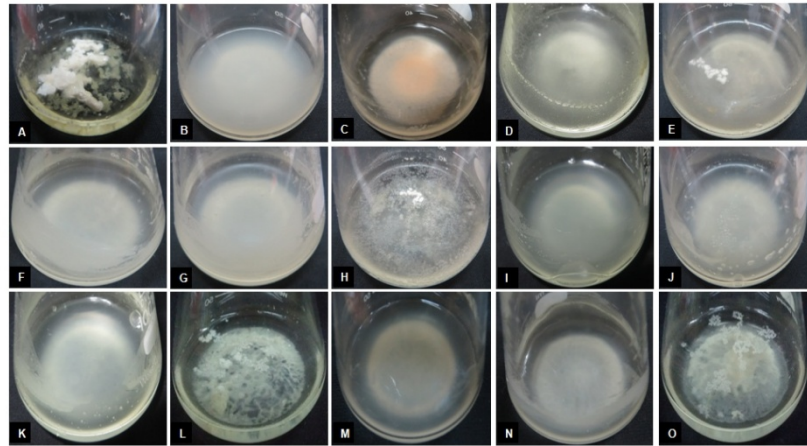
terdapat juga pembentukan pelikel pada permukaan medium kontrol yang berisi suspensi khamir dengan kode T5D2 WU 1.5, T4D2 DU 2.1. Kekeruhan warna pada media dan endapan yang terbentuk pada masing-masing khamir menunjukkan warna yang berbeda. Endapan khamir dengan kode T4D2 WU2J2 berwarna krem dan endapan khamir dengan kode T3D2 DU 1.7 berwarna merah muda.



**Gambar 1** Khamir kontrol umur 4 haridalam medium PDB (A: T1D1 WU 2.2a, B: T3D2 DU 1.7, C: T4D2 WU2J2, D: T4D2 DU 2.2, E: T4P2-DU 2.1, F: T4D2 DU 2.1, G: T3D2 DU 2.2, H: T5D2 WU 1.5, I: T5D2 WU 2.4, J: T5D2 DU 1.1, K: T5D1 DU 2.2, L: CL1 PW1, M: CL2 PW2, N: CL1 PW1)

Pengamatan koloni kapang pada control dalam medium PDB menunjukkan adanya pertumbuhan miselium pada permukaan medium pada inkubasi hari ke-1 pada kapang *Aspergillus* sp. dan mulai bersporulasi pada hari ke-3. Spora kapang dari genus *Aspergillus* ini adalah kecokelatan dengan miselium berwarna putih. Pada inkubasi hari ke-4, miselium kapang *Aspergillus* yang tumbuh semakin menebal dan bersporulasi semakin banyak (Gambar 2). Kapang tersebut tumbuh dikarenakan kapang mampu memanfaatkan nutrisi dari medium PDB.

Pada perlakuan khamir terhadap kapang terjadi beberapa penghambatan pertumbuhan hifa atau miselium dan sporulasi oleh masing-masing spesies khamir asal daun jati. Penghambatan tumbuhnya miselium dan sporulasi setiap khamir terjadi dalam jangka waktu yang berbeda. Hal ini menunjukkan masing-masing khamir memiliki kemampuan antagonistik yang berbeda terhadap kapang *Aspergillus* uji. Sebanyak Sembilan isolat khamir (T1D1 WU 2.2a, T3D2 DU 1.7, T4D2 WU2J2, T4P2-DU 2.1, T4D2 DU 2.1, T5D2 WU 1.5, T5D2 DU 1.1, CL1 PW1, T5D1 DU 2.) berpotensi dalam menghambat pertumbuhan kapang *Aspergillus* karena dapat menghambat pembentukan hifa atau miselium dan sporulasi *Aspergillus* hingga hari ke empat inkubasi. Khamir asal daun jati lainnya yaitu T5D2 WU 2.4 mampu menghambat pembentukan miselium dan sporulasi *Aspergillus* hingga hari ketiga inkubasi. Khamir kode T4D2 DU 2.2 mampu menghambat pertumbuhan miselium dan sporulasi hingga hari kedua inkubasi. Adapun khamir dengan kode T3D2 DU 2.2, CL1 PW2, CL2 PW1 hanya mampu menghambat pertumbuhan miselium dan sporulasi pada hari pertama.



**Gambar 2** Kondisi medium setelah 4 hari uji antagonism pada medium PDB. (A: Kontrol (*Aspergillus* sp.) B: T1D1 WU 2.2a, C: T3D2 DU 1.7, D: T4D2 WU2J2, E: T4D2 DU 2.2, F: T4P2-DU 2.1, G: T4D2 DU 2.1, H: T3D2 DU 2.2, I: T5D2 WU 1.5, J: T5D2 WU 2.4, K: T5D2 DU 1.1, L: T5D1 DU 2.2, M: CL1 PW1, N: CL2 PW2, O: CL1 PW1)

## Pembahasan

Pengujian antagonisme menggunakan metode *co-culture* dilakukan pada 14 khamir asal daun jati terhadap satu kapang dari genus *Aspergillus*. Pada pengujian ini, biakan khamir diinokulasikan delapan jam lebih awal pada medium PDB daripada biakan kapang, kemudian dilakukan pengocokan secara resiprokal 100 rpm pada suhu ruang. Hal tersebut dilakukan untuk memberikan keuntungan kepada khamir dalam hal adaptasi medium, perolehan nutrisi, dan perolehan ruang hidup. Ketika suspensi kapang diinokulasikan ke dalam medium yang sudah ditumbuhi oleh biakan khamir, maka nutrisi dan ruang yang tersedia pada media telah berkurang. Hal ini dapat mengakibatkan pembentukan hifa atau miselium dan juga sporulasi menjadi terhambat. Zhao *et al.* (2008) melaporkan bahwa interval waktu inokulasi khamir *Pichia guilliermondii* lebih awal 24, 12, dan 6 jam dari inokulasi kapang *Rhizopus nigricans* pada buah tomat, akan memberikan kesempatan khamir *P. guilliermondii* untuk beradaptasi pada substrat, memanfaatkan nutrisi, dan ruang hidup pada medium yang ada. El-Ghouth *et al.* (2002) melaporkan bahwa waktu inokulasi antara khamir *Candida saitoana* dengan kapang *Botrytis cinerea* sangat berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan kapang. Inokulasi khamir *C. saitoana* selama 72 jam lebih awal sebelum inokulasi kapang *B. cinerea*, menyebabkan terhambatnya pertumbuhan kapang *B. cinerea* sebesar 70% dibandingkan dengan selang waktu inokulasi selama 48 jam dan 24 jam antara kapang dan khamir. Inokulasi khamir *C. saitoana* 48 jam lebih awal sebelum inokulasi kapang *B. cinerea*, dapat menghambat pertumbuhan kapang hanya sebesar 50%, sedangkan inokulasi khamir *C. saitoana* lebih awal 24 jam sebelum inokulasi kapang *B. cinerea* tidak menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan kapang. Pengujian mengenai waktu aplikasi khamir antagonis ini sangat menentukan terhadap strategi aplikasinya di lapangan.

## Kondisi Medium

Analisis berat medium pada kontrol maupun perlakuan selama uji antagonisme dari hari pertama hingga keempat menunjukkan adanya penurunan berat medium (Tabel 1-3). Secara umum, penurunan berat medium ini dipengaruhi oleh pertumbuhan dan aktivitas khamir dan kapang. Penurunan berat pada medium terjadi dikarenakan khamir dan kapang mentransformasi dan menyerap komponen-komponen nutrisi yang ada untuk pertumbuhannya. Moille *et al.* (2010) melaporkan bahwa pada ekstrak kentang mengandung beberapa

senyawa, seperti pati, protein, dan potasium. Pati dan dekstrosa merupakan sumber karbon yang didegradasi menjadi gula sederhana yang dapat digunakan sebagai sumber energi untuk metabolisme khamir dan kapang, sedangkan protein merupakan sumber nitrogen yang juga mendukung pertumbuhan khamir dan kapang. Selain itu, nitrogen digunakan oleh mikroorganisme untuk sintesis protein dan asam nukleat. Sedangkan potasium (garam  $K^+$ ) berfungsi sebagai penyeimbang ion di dalam sel dan memiliki peran dalam aktivitas enzim (Kavanagh 2005).

Penamatan pH medium juga menunjukkan adanya penurunan pH dari pH 5,0 menjadi antara pH 4,0 – 5,0. Penurunan pH pada medium dapat juga mengindikasikan adanya pertumbuhan biakan khamir dan kapang pada medium cair kontrol dan perlakuan. Khamir dan kapang mentransformasi pati dan dekstrosa yang ada pada medium menjadi nutrisi yang sederhana untuk metabolisme dan juga asam-asam organik sebagai produk sampingannya. Akumulasi berbagai asam organik tersebut akan menyebabkan pH pada medium cair mengalami penurunan. Hal ini sejalan dengan Zhang *et al.* (2008) yang melaporkan terjadinya penurunan pH pada medium pengujian antagonisme antara khamir *Rhodotorula glutinis* terhadap kapang *P. expansum* dikarenakan adanya akumulasi dari senyawa asam askorbat (1 mg/100g) dan asam malat (0,69%) yang terbentuk dari hasil metabolisme dari khamir tersebut. Coelho *et al.* (2007) juga melaporkan bahwa medium *Yeast Malt Broth* (YMB) yang telah diinokulasikan khamir *Pichia ohmeri* dengan kapang *P. expansum* menunjukkan terjadinya penurunan pada pH medium dari pH 4,0 menjadi 3,3 dengan inkubasi medium selama 15 hari. Hal tersebut terjadi karena adanya produk-produk asam organik sebagai hasil metabolisme khamir *P. ohmeri* yang berpengaruh langsung terhadap penurunan pH medium.

### Uji Antagonisme

Studi ini menunjukkan bahwa Sembilan isolate khamir (T1D1 WU 2.2a, T3D2 DU 1.7, T4D2 WU2J2, T4P2-DU 2.1, T4D2 DU 2.1, T5D2 WU 1.5, T5D2 DU 1.1, CL1 PW1, T5D1 DU 2.) berpotensi dalam menghambat pertumbuhan kapang *Aspergillus* karena dapat menghambat pembentukan hifa atau miselium dan sporulasi *Aspergillus* hingga hari ke empat inkubasi. Kemampuan khamir dalam menghambat pertumbuhan miselium maupun sporulasi kapang dikarenakan adanya kompetisi terhadap ruang dan nutrisi antara isolat khamir dan kapang dalam medium. Diduga kapang akan mengalami kekurangan nutrisi untuk melakukan pertumbuhan saat ditumbuhkan bersama sel khamir di medium yang sama, sehingga miselium yang terbentuk menjadi lebih sedikit dan tidak adanya sporulasi pada pertumbuhan kapang.

Muccilli & Restuccia (2015) melaporkan penghambatan pertumbuhan kapang oleh khamir berdasarkan kompetisi nutrisi dan ruang, yaitu khamir *A. pullulans* strain PL5 terhadap kapang *Monilinia laxa* dari buah Plum dan Kedondong, serta kapang *B. cinerea* dan *P. expansum* dari buah apel dan buah delima. Selanjutnya khamir *M. pulcherrima* strain GS37, GS88, GA102, BIO126 terhadap kapang *B. cinerea* and *P. expansum* dan *M. pulcherrima* strain LS15 terhadap *B. cinerea*, juga berkompetisi berdasarkan nutrisi dan ruang. Bencheqroun *et al.* (2007) melaporkan bahwa khamir *A. pullulans* mampu menghambat pertumbuhan kapang *P. expansum* secara *in vitro* pada medium jus apel 0,5% (v/v) melalui mekanisme kompetisi nutrisi dan ruang. Interaksi antagonisme dari khamir *A. pullulans* terhadap *P. expansum* yang terjadi menyebabkan terhambat tumbuhnya hifa atau miselium serta germinasi spora kapang sebesar 71% dibandingkan dengan kontrol. Selain itu, Sharma *et al.* (2009) melaporkan bahwa *C. saitoana* dengan jumlah sel awal sebesar  $1 \times 10^7$  CFU/mL melakukan kompetisi ruang dan nutrisi terhadap *Penicillium expansum* (jumlah hifa kapang awal sebesar  $1 \times 10^5$  CFU/mL) pada buah apel secara *in vitro*. Khamir tersebut diasumsikan dapat menggunakan nutrisi lebih banyak dibandingkan dengan kapang,



sehingga populasi khamir meningkat. Peningkatan populasi khamir menyebabkan kapang kekurangan nutrien, sehingga germinasi spora kapang menjadi terhambat. Selain menghambat tumbuhnya hifa, khamir juga menghambat pertumbuhan kapang dengan memperkecil ukuran konidia dan lebar hifa seperti yang ditunjukkan khamir *Rhodotorula* sp. UICC Y-381 terhadap *A. ochraceus* (Hapsari *et al.* 2011). Hasil penelitian yang menunjukkan bahwa khamir menghambat pertumbuhan *Aspergillus* juga ditunjukkan oleh penelitian Dhiani (2012) bahwa khamir *A. pullulans* UICC Y-527, *Aureobasidium* sp. UICC Y-528, *C. orthopsilosis* UICC Y-533, *Meyerozyma caribbica* UICC Y-518 dan *M. caribba* UICC Y-529, memiliki kemampuan antagonisme terhadap kapang patogen tomat yaitu *A. Niger*, *A. ochraceus* dan *A. terreus*.

Kemampuan antagonis khamir ditunjukkan dengan ketiadaan pertumbuhan hifa atau miselium dan sporulasi kapang pada permukaan medium. Terjadi pula reduksi ukuran hifa kapang 3-85% hingga mortalitas kapang 100%. Adapun terhadap khamir, terdapat peningkatan jumlah sel khamir 1,81-50,09%, peningkatan panjang sel khamir 2-7% dan peningkatan lebar sel khamir 1-2%. Khamir antagonis potensial yang didapatkan pada penelitian tersebut adalah *Aureobasidium* sp. UICC Y-516 yang memiliki kemampuan mereduksi pertumbuhan kapang (reduksi ukuran hifa 85% dan menyebabkan mortalitas kapang 100% pada inkubasi hari ke-4).

Selain kompetisi ruang dan nutrien, Ferraz *et al.* (2016) melaporkan bahwa mekanisme penghambatan patogen oleh mikroorganisme dapat terjadi secara enzimatik. Dalam antagonisme khamir dan kapang, khamir dapat mengeluarkan enzim yang mendegradasi dinding sel kapang sehingga mengganggu proses metabolisme dan pertumbuhan kapang. Zhang *et al.* (2010) melaporkan bahwa enzim  $\beta$ -1,3-glukanase, exo-chitinase, endo-chitinase, dan protease ekstraseluler dihasilkan oleh khamir *A. pullulans* PL5 selama proses interaksi dengan patogen. Muccilli & Restuccia (2015) juga melaporkan bahwa *A. pullulans* LS30 menghasilkan exochitinase ekstraseluler, *N*-acetyl- $\beta$ -d-glucosaminidase atau Nagase, dan  $\beta$ -1-3-glukanase.

Berdasarkan hasil tersebut di atas dapat disimpulkan bahwa pengujian antagonisme menggunakan metode *co-culture* menunjukkan bahwa dari 14 isolat khamir asal daun jati, terdapat 9 isolat khamir dengan kode T1D1 WU 2.2a, T3D2 DU 1.7, T4D2 WU2J2, T4P2-DU 2.1, T4D2 DU 2.1, T5D2 WU 1.5, T5D2 DU 1.1, CL1 PW1, dan T5D1 DU 2.2 yang mampu menghambat pembentukan miselium dan sporulasi kapang *Aspergillus* sp. Hal ini menunjukkan bahwa isolate khamir tersebut dapat dikembangkan sebagai agen biokontrol kapang *Aspergillus* sp. pada pakan ternak ayam.

### Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini didanai oleh Universitas Nasional dan Universitas Negeri Jakarta dalam hibah stimulus penelitian.

### Pustaka

- Angulo FJ, Baker NL, Olsen SJ, Anderson A, Barrett TJ. 2004—Antimicrobial use in agriculture: controlling the transfer of antimicrobial resistance to humans. *Seminars in Pediatric Infectious Disease* 15(2), 78–85.
- Atlas RM. 2010 – Handbook of microbiological media. CRC Press Inc., Florida.
- Bencheqroun SK, Bajji M, Massart S, Labhilili M, El Jaafari S, Jijakli MH. 2007– In vitro and in situ study of postharvest apple blue mold biocontrol by *Aureobasidium pullulans*: Evidence for the involvement of competition for nutrients. *Postharvest biology and technology of fruits vegetables and flowers* 46, 128–135.
- Benson T. 2001—Microbiological Applications Laboratory Manual in General Microbiology. 8<sup>th</sup> Edition, The McGraw-Hill, New York.



- Coelho AR, Celii MG, Ono EYS, Wosiacki G, Hoffman FL, Pagnocca FC, Hirooka EY. 2007–*Penicillium expansum* versus antagonist yeast and patulin degradation in vitro. *Brazilian Archive of Biology and Technology* 50 (4), 725–733.
- Cegielska-Radziejewska R, Stuper K, Szablewski T. 2013 – Microflora and mycotoxin contamination in poultry feed mixtures from western Poland. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 20(1), 30–35.
- Dhiani HP. 2012 –Kemampuan antagonism khamir filum Ascomycota dari tanaman saeh (*Broussonetia papyrifera* Vent.) asal Trowulan terhadap *Aspergillus* spp. Skripsi. Universitas Indonesia. Depok.
- ElGhouth A, Wilson CL, Wisniewski M. 2002– Control of postharvest decay of Apple fruit with *Candida saitoana* and induction of defense responses. *Phytopathology* 93, 344–348.
- Ferraz LP, Cunha TD, da Silva AC, Kupper KC. 2016–Biocontrol ability and putative mode of action of yeasts against *Geotrichum citri-aurantii* in citrus fruit. *Microbiology Research* 188–189, 72–79. doi: 10.1016/j.micres.2016.04.012.
- Gillespie JR, Flanders FB. 2009 –Modern Livestock and Poultry Production, 8th edition. Cengage Learning, Ontario, Canada.
- Greco M, Kempainen M, Pose G, Pardo A. 2015 – Taxonomic characterization and secondary metabolite profiling of *Aspergillus* Section *Aspergillus* contaminating feeds and feedstuffs. *Toxins* 7, 3512–3537. doi: 10.3390/toxins7093512.
- Hafsari AR, Oetari A, Salamah A, Sjamsuridzal W. 2011–Pengujian kemampuan antagonistic khamir *Rhodotorula* spp. Asal Kebun Raya Cibodas terhadap kapang dari tanaman tomat terinfeksi dengan *co-culture*. *Jurnal Kajian Islam, Sains dan Teknologi* 5(1–2), 149–160.
- Kavanagh K. 2005– *Fungi, biology and applications*. John Wiley & Sons Ltd., West Sussex.
- Marshall BM, Levy SB. 2011 – Food animals and antimicrobials: impacts on human health. *Clinical Microbiology Reviews* 24(4), 718–733. doi: [10.1128/CMR.00002-11](https://doi.org/10.1128/CMR.00002-11)
- Moille B, Charrondiere UR, Burlingame B, Litaladio N. 2010– Nutrient composition of the potato: Interesting varieties from human nutrition perspective. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Muccilli S, Restuccia C. 2015 – Bioprotective role of yeasts. *Microorganisms* 3(4), 588–611. doi: 10.3390/microorganisms3040588.
- Oetari A, Salamah A, Sjamsuridzal W. 2007 –Bioprospek mikosin dari khamir indigenous Indonesia (asal kebun raya Cibodas) sebagai biokontrol jamur patogen pada tanaman pangan. Laporan Akhir Riset Unggulan Universitas Indonesia.
- Palou L, Smilanick JL, Droby S. 2008 – Alternatives to conventional fungicides for the control of citrus postharvest green and blue moulds. *Stewart Postharvest Review* 4(2), 1–16.
- Sánchez-Torres P, Tuset JJ. 2011 – Molecular insights into fungicide resistance in sensitive and resistant *Penicillium digitatum* strains infecting citrus. *Postharvest Biology Technology* 59(2), 159–165.
- Shareef AM. 2010 – Molds and mycotoxins in poultry feeds from farms of potential mycotoxicosis. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 24(1), 17–25.
- Sharma A, Patel VK, Ramteke P. 2009 – Identification of vibriocidal compound from medical plant. *World Journal Microbiology Biotechnology* 25, 19–25.
- Zhang D, Spadaro D, Garibaldi A, Gullino ML. 2010– Efficacy of the antagonist *Aureobasidium pullulans* PL5 against postharvest pathogens of peach, apple and plum and its modes of action. *BioControl* 54, 172–180.

- Zhang HY, Wang S, Huang X, Dong Y, Zheng X. 2008– Integrated control of postharvest blue mold decay of pears with hot water treatment and *Rhodotorula glutinis*. Postharvest biology and technology 49, 308–313.
- Zhao Y, Tu K, Shao X, Jing W, Su Z. 2008 – Effects of the yeast *Pichia guilliermondii* against *Rhizopus nigricans* on tomato fruit. Postharvest Biology Technology 49, 113–120.
- World Health Organization. 2017. WHO guidelines on use of medically important antimicrobials in food-producing animals. World Health Organization. Geneva.